

Übung 11 – Genregulation bei Prokaryoten

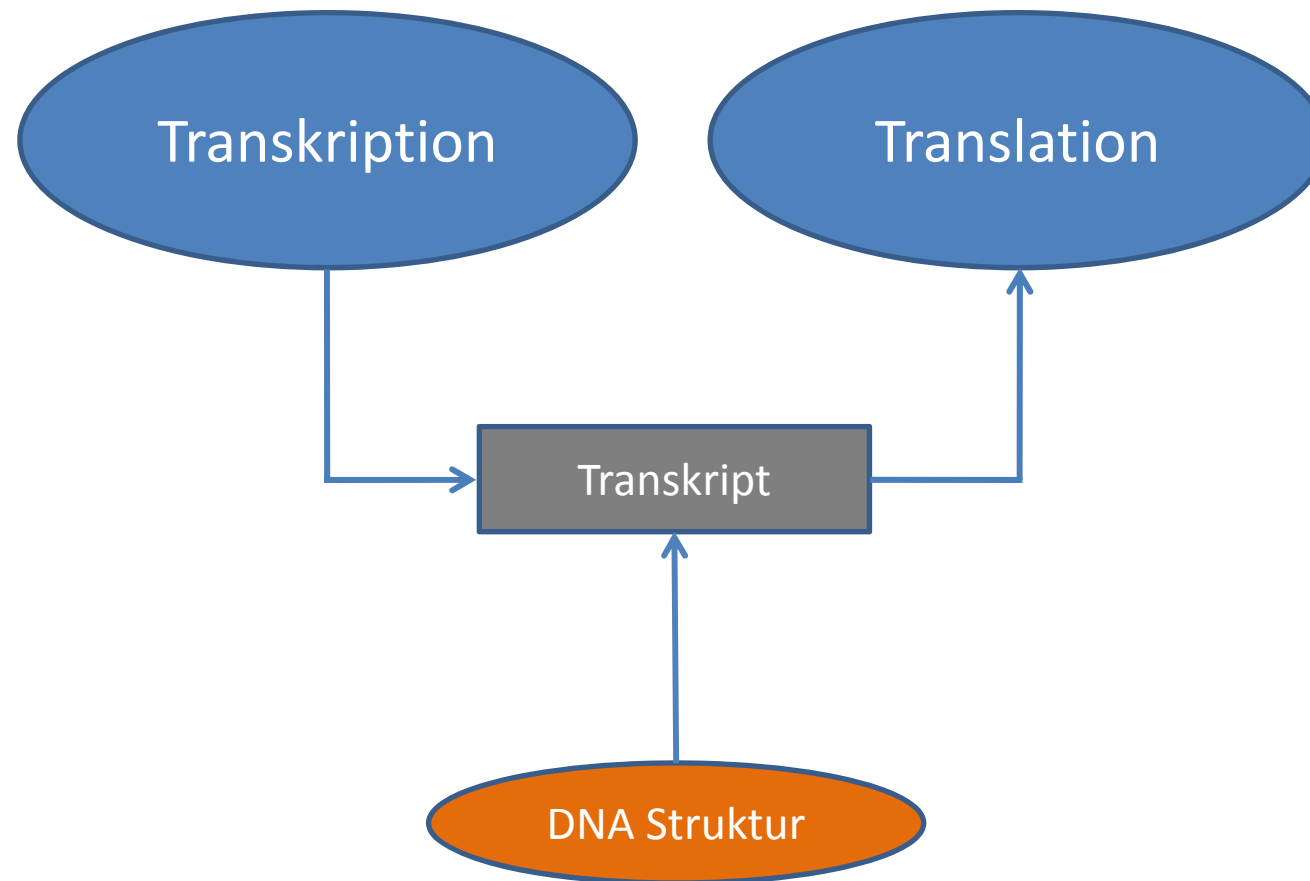
Konzepte:

- ➡ Entwicklungs-/gewebespezifische Genexpression
- ➡ Coexpression funktional überlappender Gene
- ➡ Positive Genregulation
- ➡ Negative Genregulation
- ➡ *cis-/trans*-Regulation

1. Auf welchen Ebenen kann Genregulation stattfinden?

Definition Genregulation:

Die Kontrolle eines Gentranskripts und seines Genproduktes.

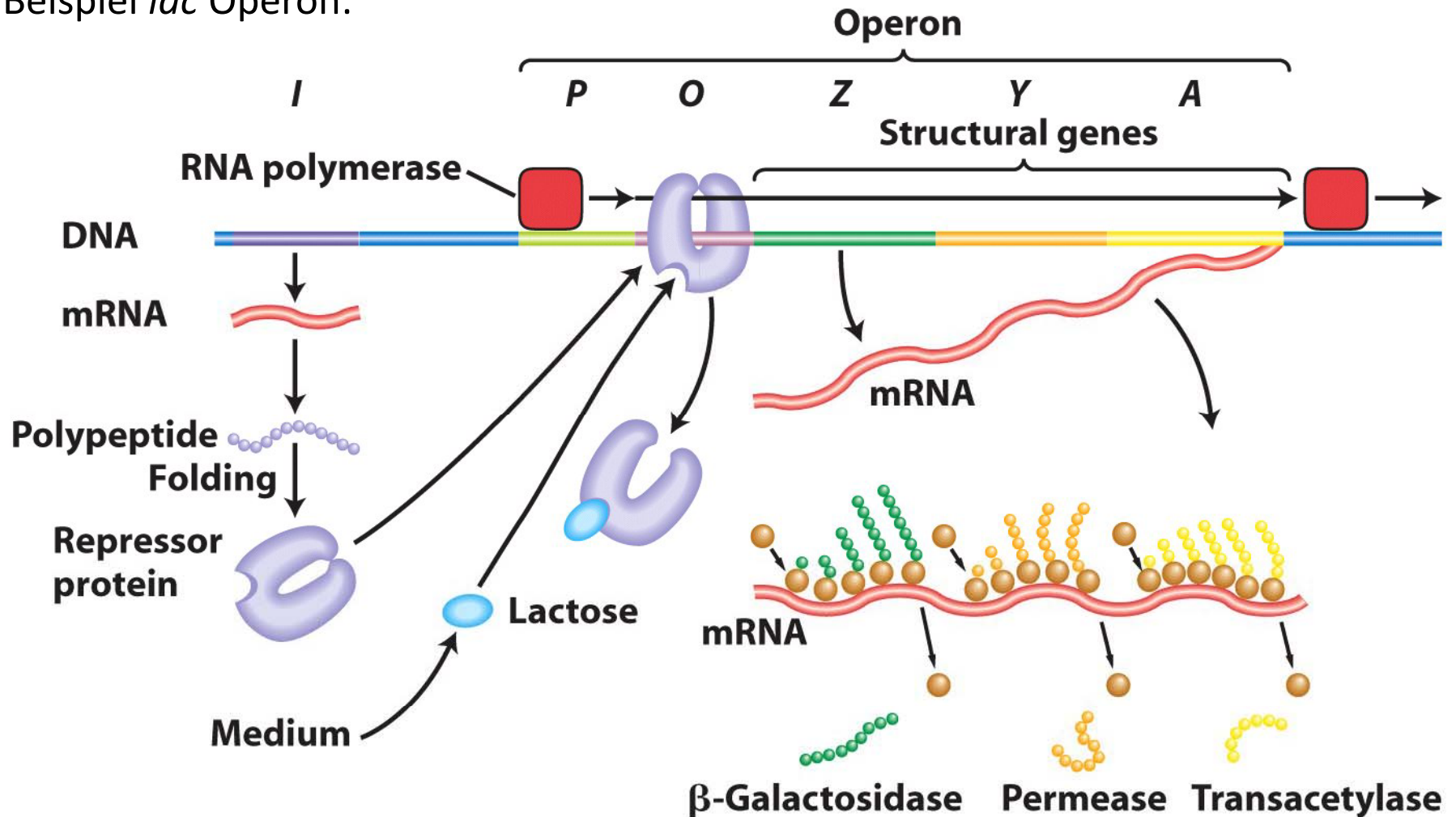


2. Was versteht man unter einem Operon?

Definition Operon:

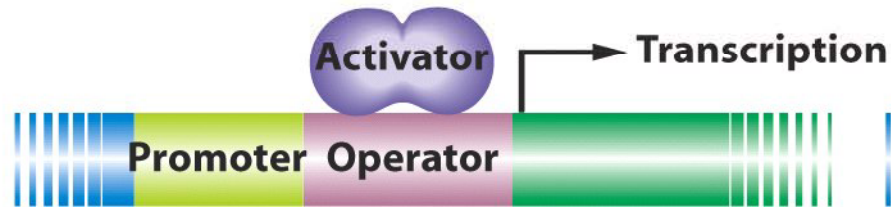
Einheit aus Promotor, Operator und codierenden Sequenzen von zwei oder mehr Genen.

Beispiel *lac* Operon:

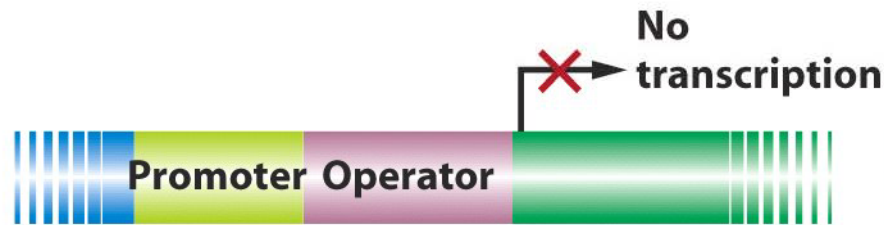
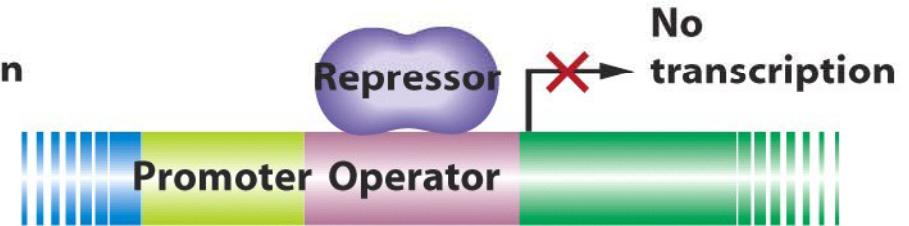


3. Erklären Sie die positive und negative Regulation des lac-Operons. Welchen Einfluß hat die Glucosekonzentration auf die Expression?

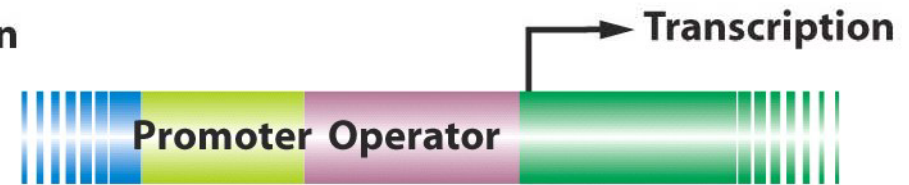
Positive regulation



Negative regulation



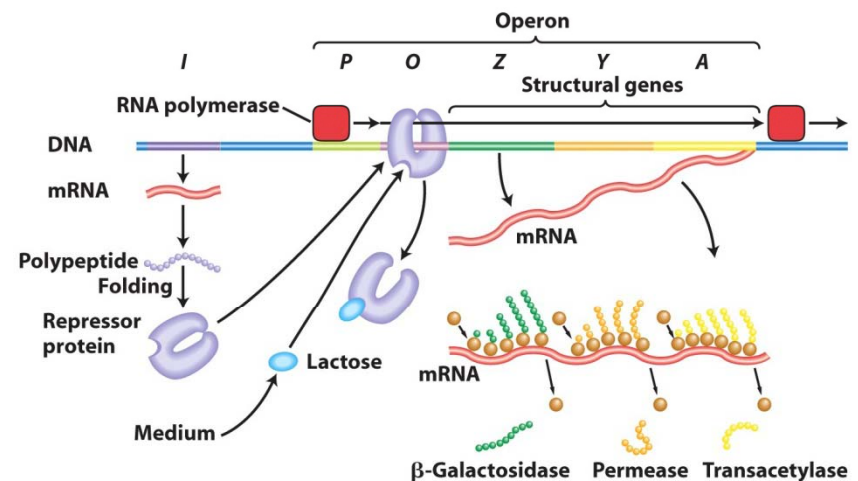
(No activator)



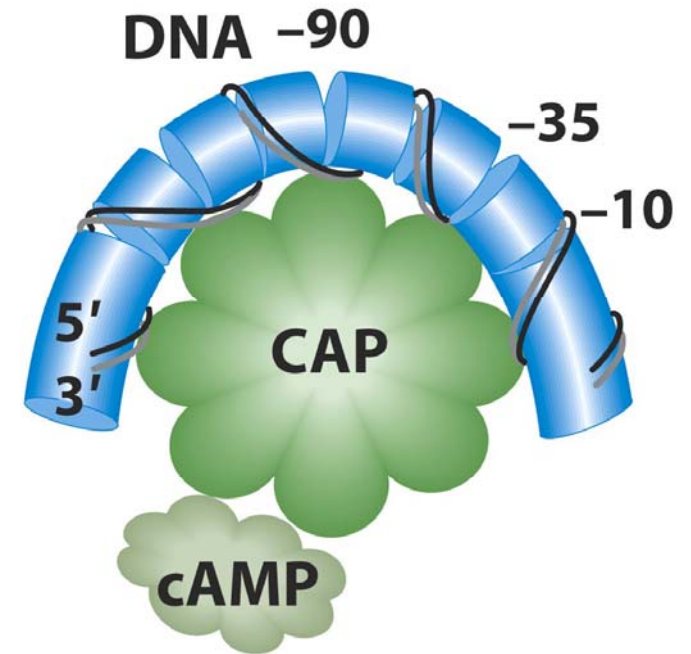
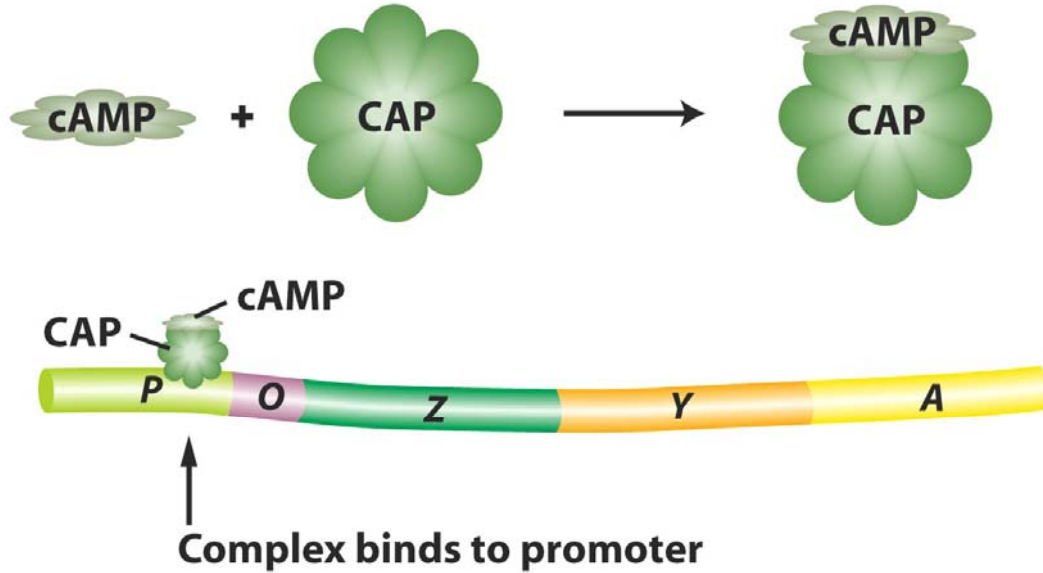
(No repressor)



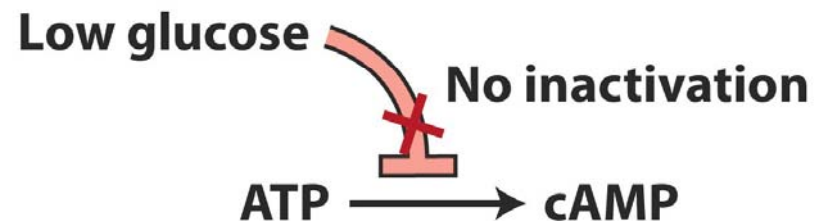
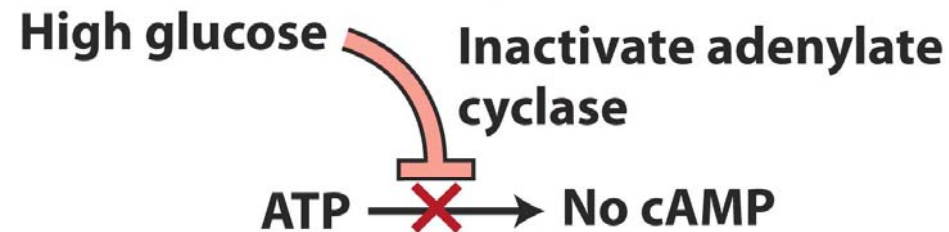
**CAP-cAMP System
abhängig von Glucose**



cAMP-CAP complex activates transcription

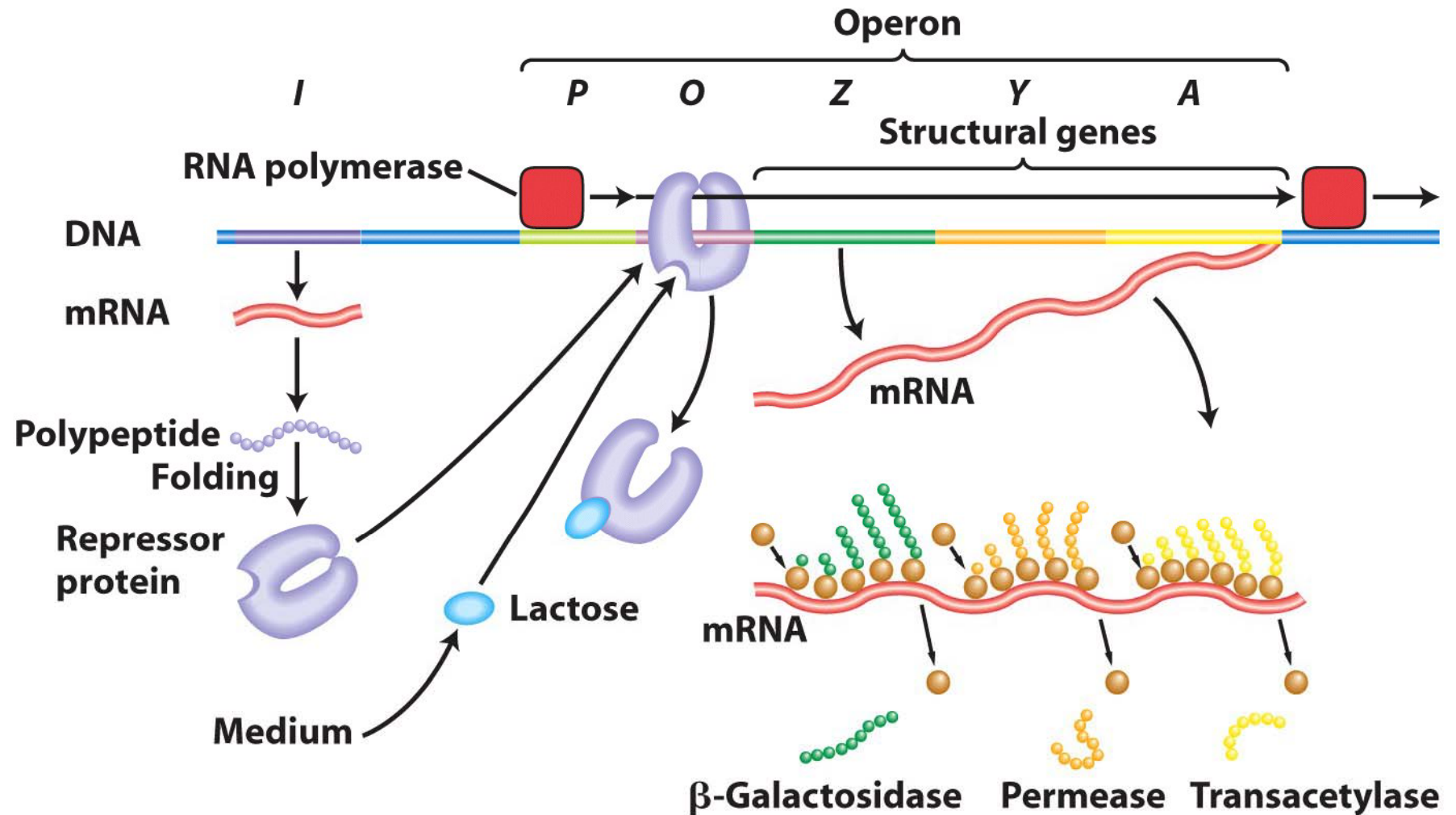


Glucose levels regulate cAMP levels



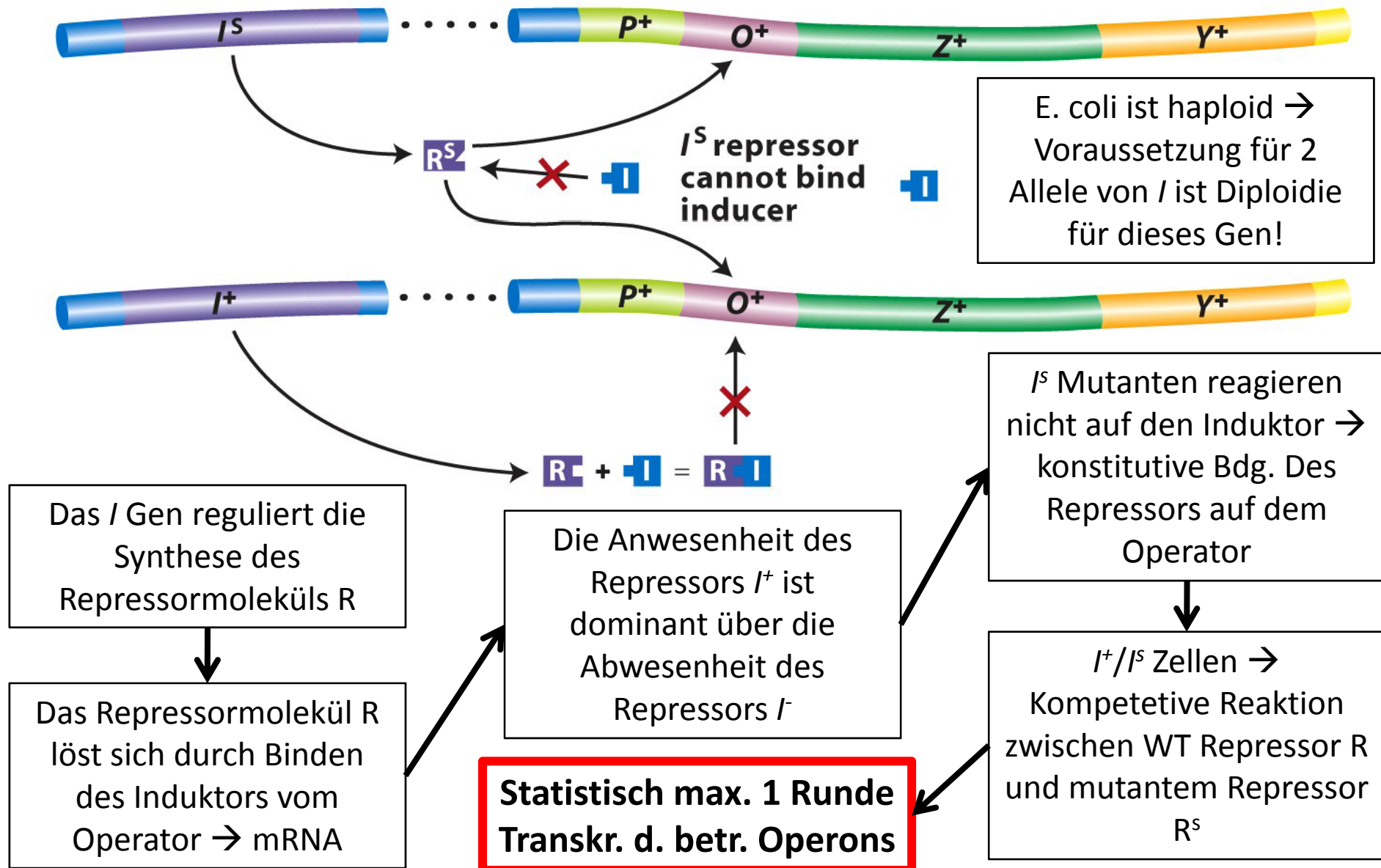
4. Woran bindet der lac-Repressor?

- a) Lactose und DNA
- b) RNA-Polymerase
- c) RNA-Polymerase und DNA
- d) β -Galactosidase, Permease und Transacetylase.
- e) Promotor und Lactose



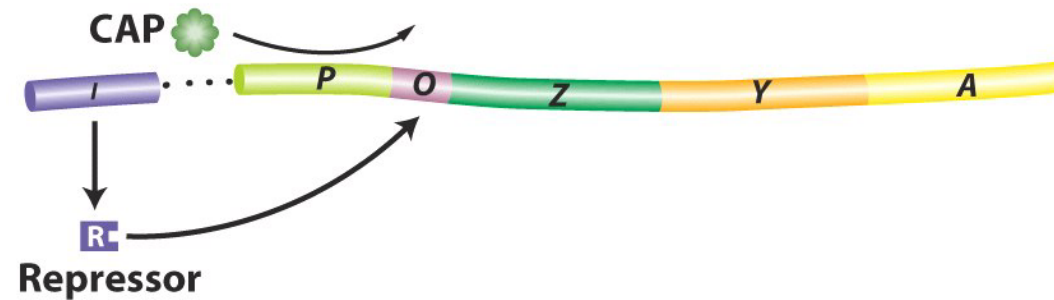
5. Der Repressor I^S kann keinen Induktor binden, da die Bindestelle defekt ist.
Wie wird das lac-Operon in einer Zelle exprimiert, die sowohl I als auch I^S enthält?

I^+/I^S heterozygote

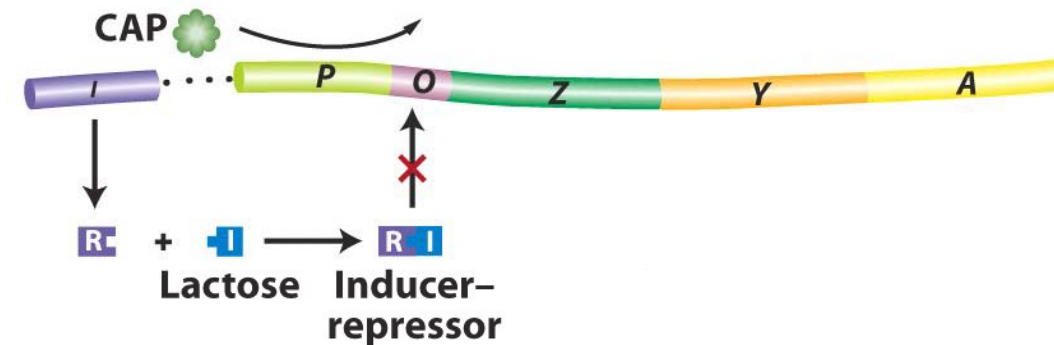


6. Wie wird das lac-Operon bei a) hohem und b) niedrigem Glucosespiegel exprimiert?

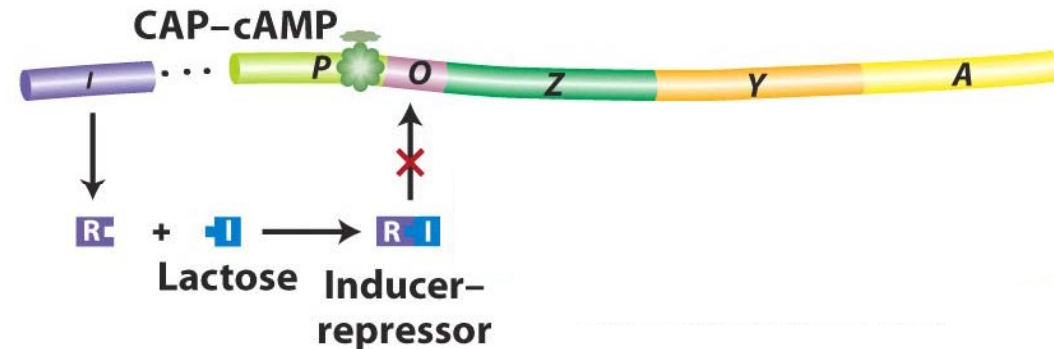
(a) Glucose present (cAMP low); no lactose;



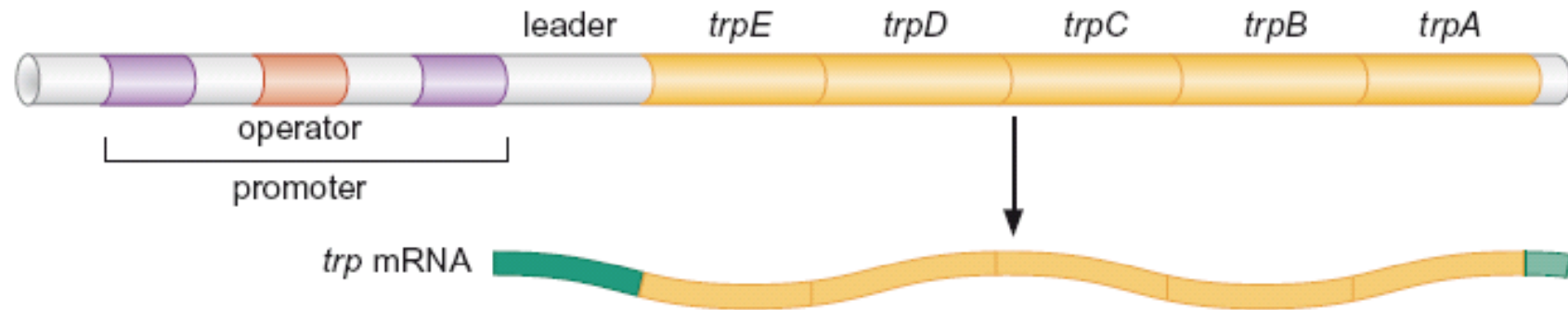
(b) Glucose present (cAMP low); lactose present



(c) No glucose present (cAMP high); lactose present



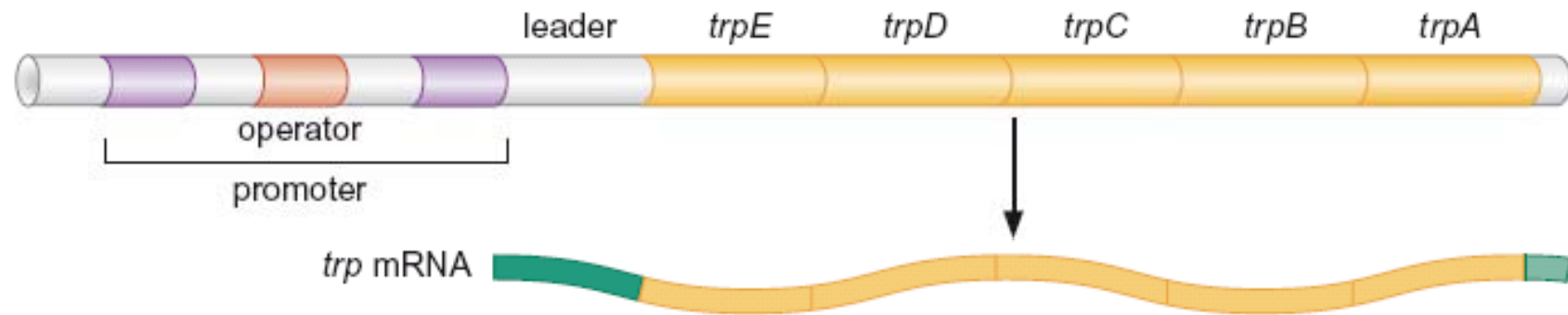
7. Was versteht man unter Attenuation?



Arten der Regulation des Tryptophan Operons:

1. Trp Repressor bindet nur an den Operator, wenn er selbst an Trp gebunden ist
→ Trp = Induktor → aber Funktion gegensätzlich zum *lac* Operon
2. Trp selbst inhibiert das erste Enzym der Trp Biosynthese
→ negative Feedback-Inhibierung

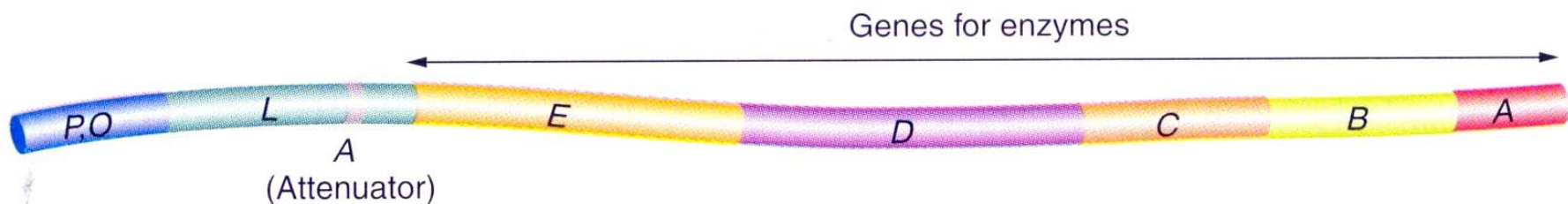
→ **Repressives System in dem Überschuss eines Produktes (Trp) zum Abschalten der Enzyme führt, die dieses Produkt synthetisieren**



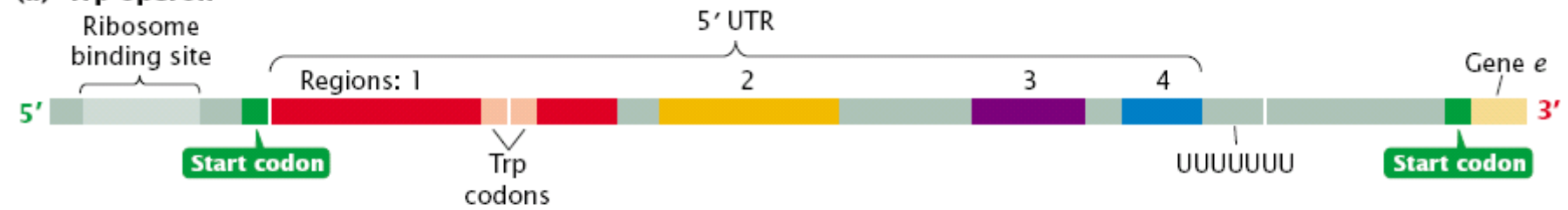
Weiteres Level der Regulation wurde durch *trpR*⁻ (Repressor Locus abwesend) Mutanten bekannt:

- *trpR*⁻ Mutanten produzieren auch in Anwesenheit von Trp weiterhin Trp mRNA
 - Repressor inaktiv
 - wenn diese Mutanten auf Medium ohne Trp transferiert werden, produzieren sie auf einmal 10X mehr Trp mRNA
 - da Repressor inaktiv kann das nicht mit normaler Derepression des Operators durch die Abwesenheit von Trp erklärt werden

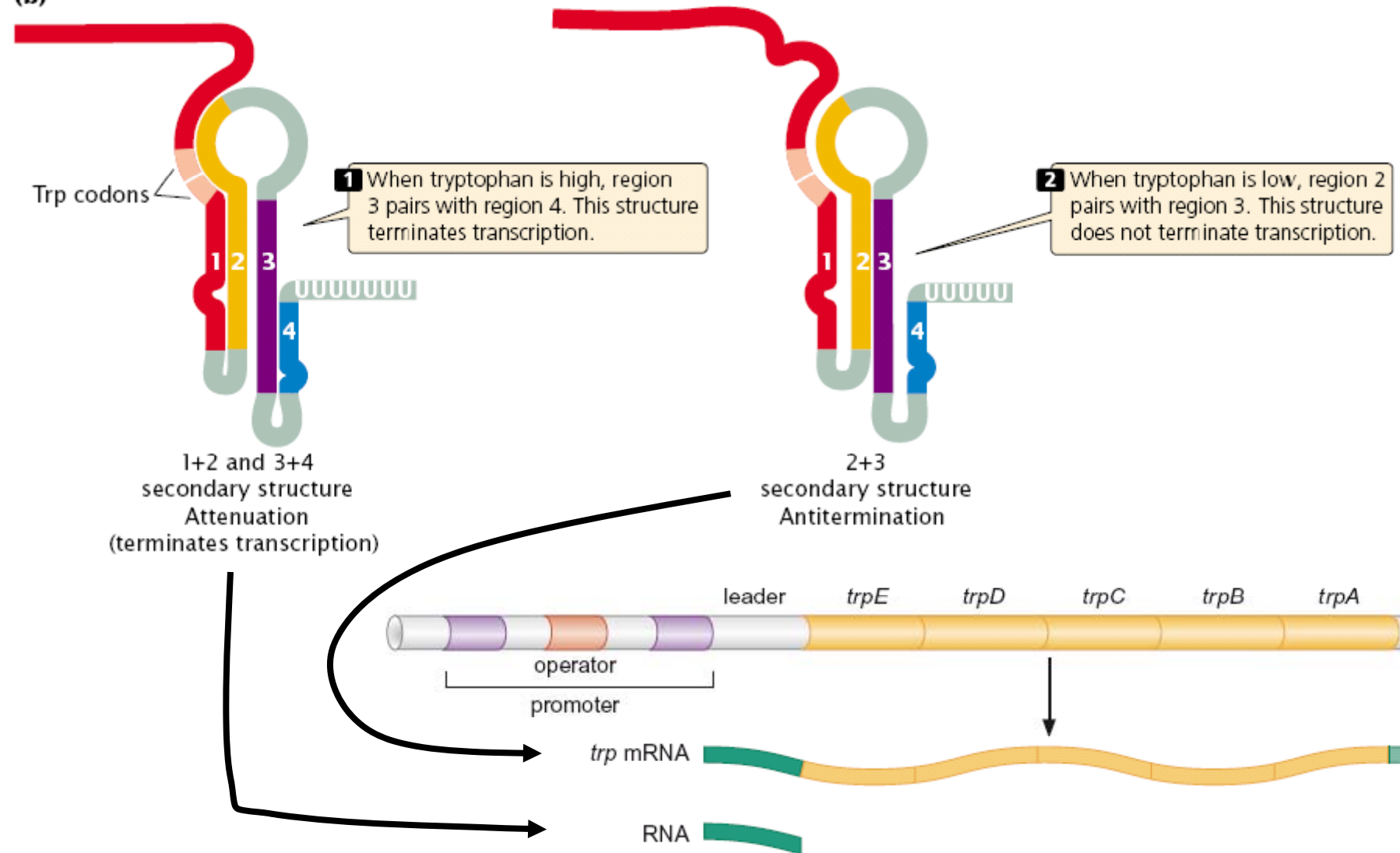
Additional Examples of Control: Attenuation



(a) Trp operon



(b)



When tryptophan is high

(a)

- 1 RNA polymerase begins transcribing DNA, producing region 1 of the 5' UTR.

(b)

- 2 A ribosome binds to the 5' end of the 5' UTR and begins to translate region 1, while region 2 is being transcribed.

(c)

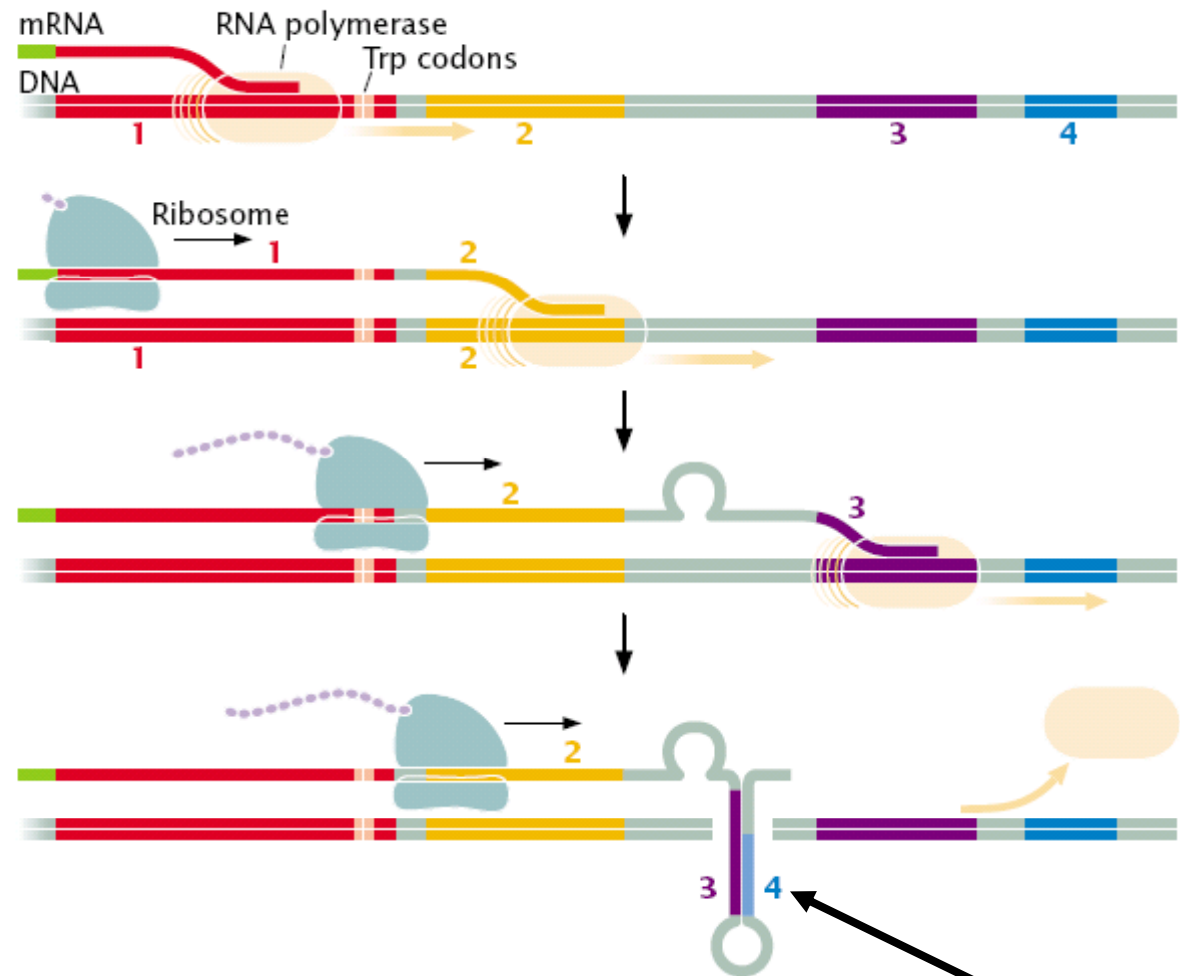
- 3 The ribosome translates region 1 while RNA polymerase transcribes region 3.

- 4 The ribosome does not stall at the Trp codons, because tryptophan is abundant.

(d)

- 5 The leading edge of the ribosome covers part of region 2, preventing it from pairing with region 3.

- 6 Region 4 is transcribed and pairs with region 3. The pairing of regions 3 and 4 produces the attenuator that terminates transcription.



trpR⁻ Mutanten mit konstitutiver Trp mRNA Synthese weisen Deletion in Region 4 der Leadersequenz auf (Doppelmutante)

→ Sekundärstruktur zwischen Regionen 3 und 4 kann nicht entstehen

→ kein Transkriptions-Terminierungs-Loop

→ komplettes Operon wird transkribiert

When tryptophan is low

(e)

- 1 RNA polymerase begins transcribing the DNA, producing region 1 of the 5' UTR.

(f)

- 2 A ribosome attaches to the 5' end of the 5' UTR and begins to translate region 1 while region 2 is being transcribed.

(g)

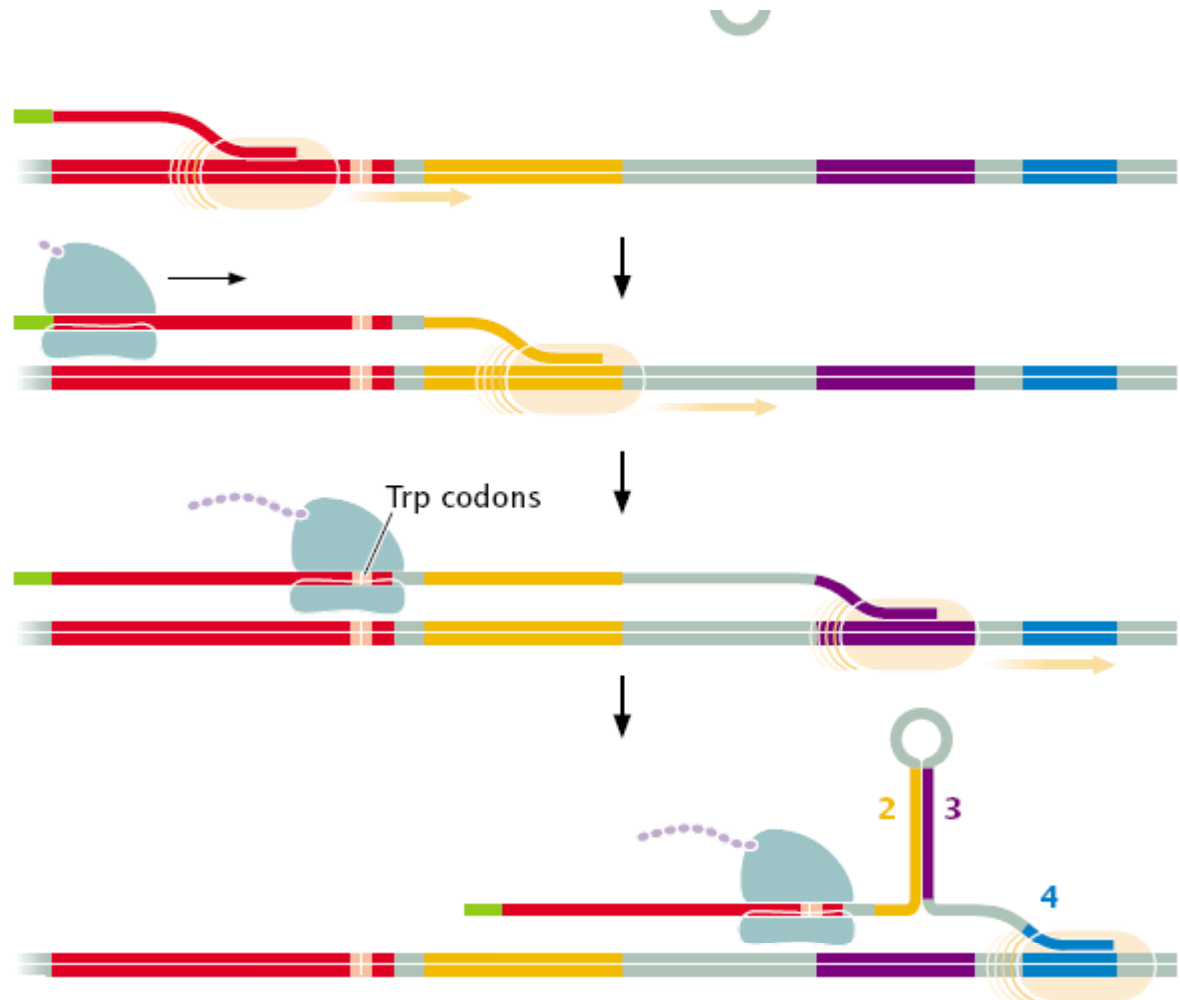
- 3 The ribosome stalls at the Trp codons in region 1 because tryptophan is low.

- 4 Because the ribosome is stalled, region 2 is not covered by the ribosome when region 3 is transcribed.

(h)

- 5 When region 3 is transcribed, it pairs with region 2.

- 6 When region 4 is transcribed, it cannot pair with region 3, because region 3 is already paired with region 2; the attenuator never forms, and transcription continues.



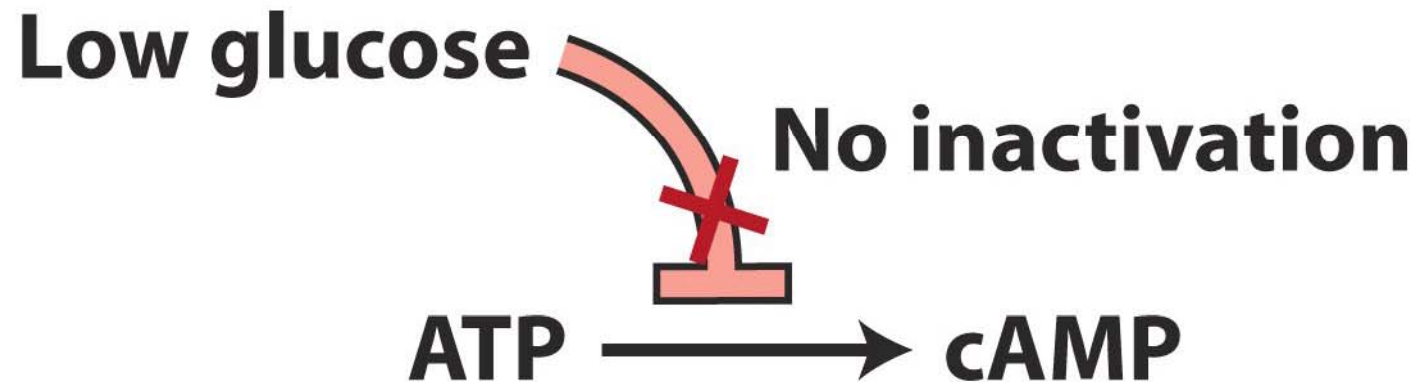
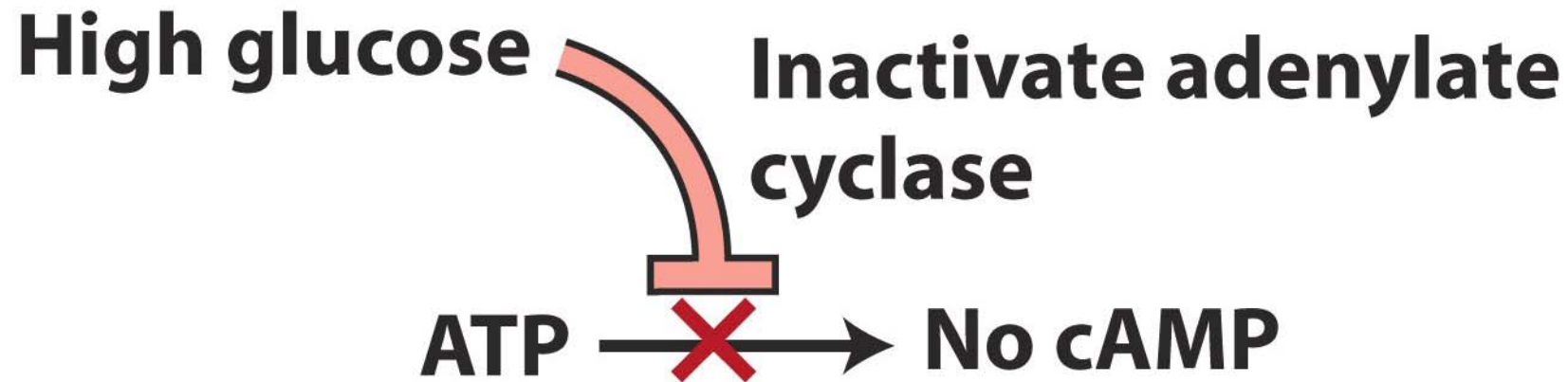
8. Was ist gemeint?

- a) Dieses Molekül akkumuliert im Cytoplasma der Bakterien bei niedrigem Glucosespiegel. Es ist essentiell für das Signal der Katabolitrepression.
- b) Dieses regulatorische Protein bindet an cAMP und stimuliert die Bindung der RNA-Polymerase an den Promotor des lac-Operons.
- c) Dieser Begriff beschreibt den Effekt genetischer Elemente auf andere Elemente, wenn sie benachbart zu diesen liegen. Z.B. hat ein Operator diesen Effekt auf die nachfolgenden Gene.
- d) Ein Umweltmolekül, welches die Transkription eines Operons aktiviert.
- e) Eine Region eines Operons, die dem Repressor die Bindung ermöglicht.
- f) Ein Set von Genen, deren RNA in einem Molekül synthetisiert wird.
- g) Dieser Begriff beschreibt die Beschleunigung/Aktivierung von Transkription, wie z.B. durch cAMP-CAP.
- h) Dieser Begriff bezeichnet ein Protein, welches an den Operator bindet.
- i) Regulation durch Faktoren, die die Transkription verhindern.
- j) Genregion, an welcher die RNA-Polymerase bindet, um die Transkription zu starten.

8. Was ist gemeint?

- a) Dieses Molekül akkumuliert im Cytoplasma der Bakterien bei niedrigem Glucosespiegel. Es ist essentiell für das Signal der Katabolitrepression.

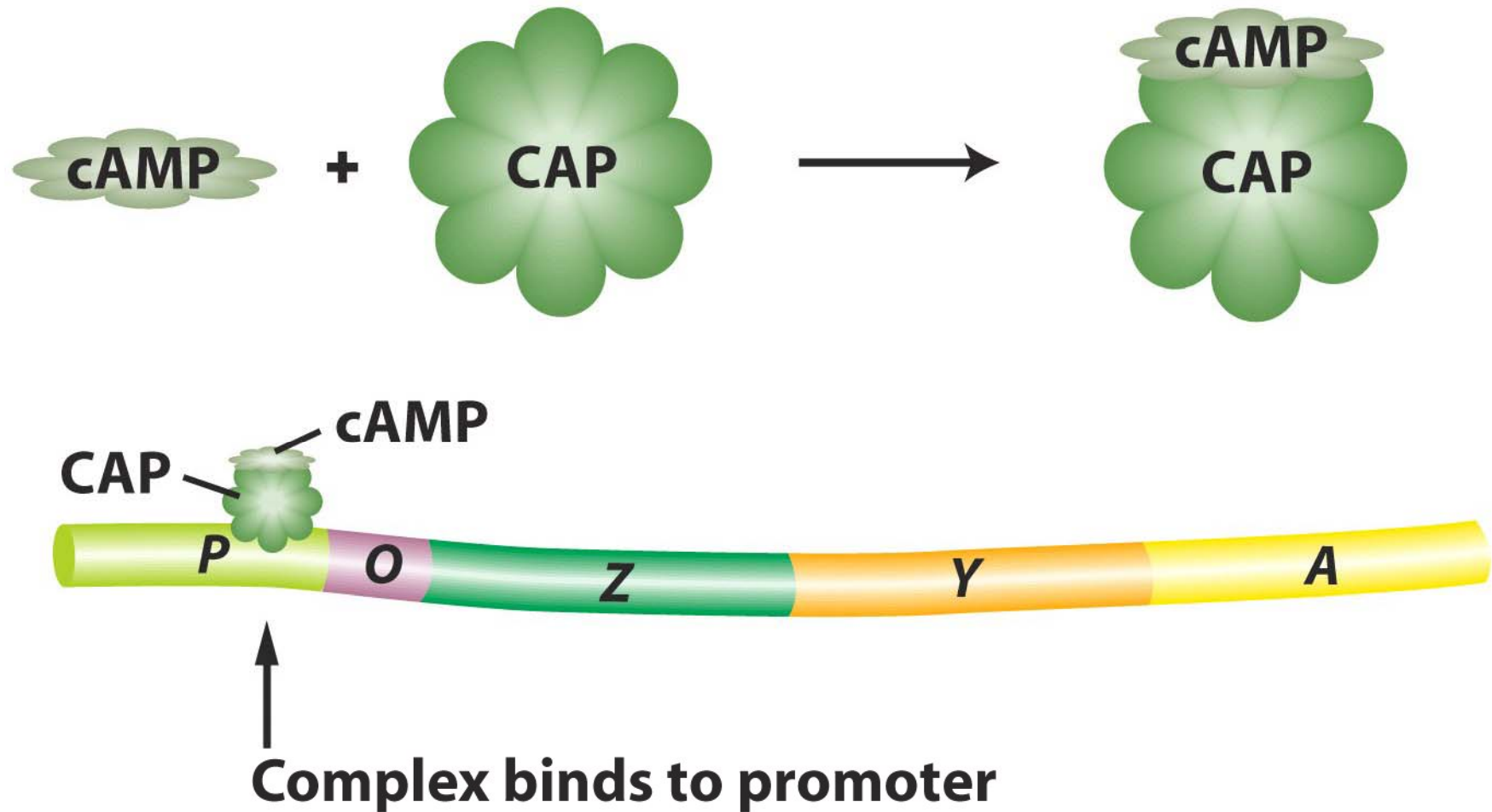
Glucose levels regulate cAMP levels



8. Was ist gemeint?

b) Dieses regulatorische Protein bindet an cAMP und stimuliert die Bindung der RNA-Polymerase an den Promotor des lac-Operons.

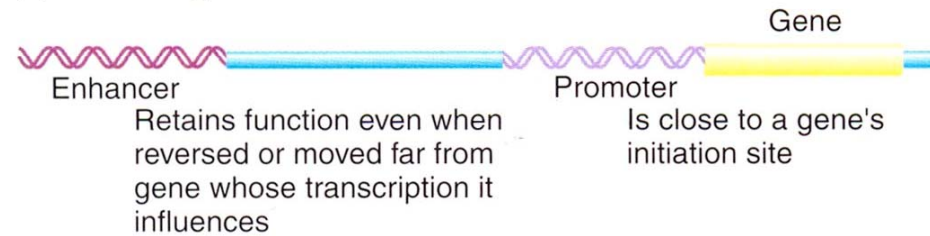
cAMP–CAP complex activates transcription



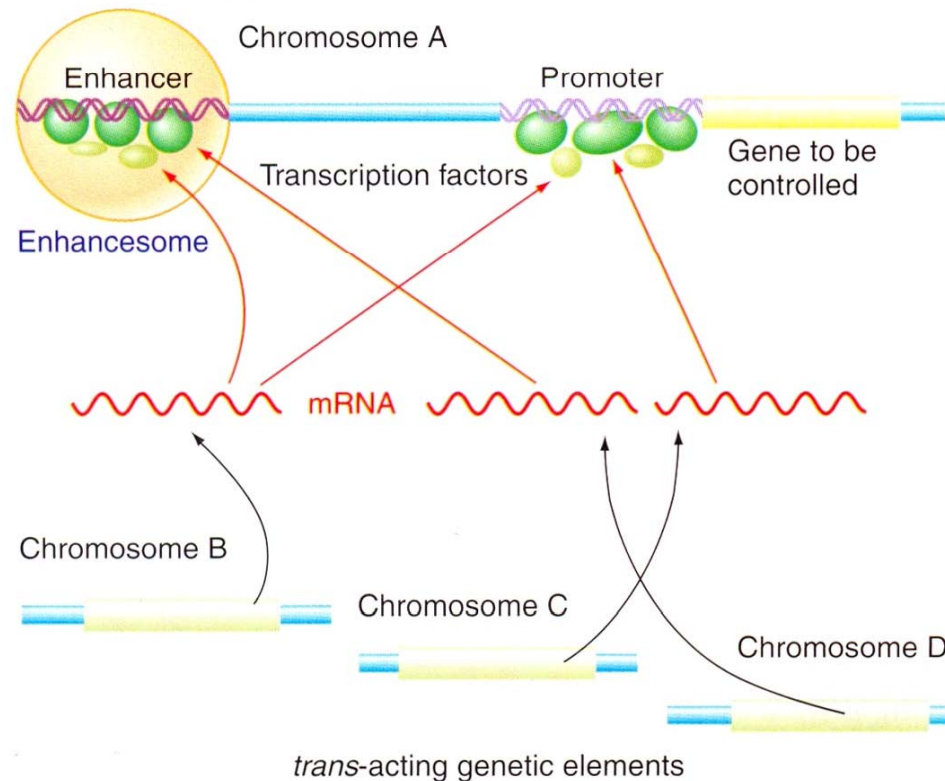
8. Was ist gemeint?

- c) Dieser Begriff beschreibt den Effekt genetischer Elemente auf andere Elemente, wenn sie benachbart zu diesen liegen. Z.B. hat ein Operator diesen Effekt auf die nachfolgenden Gene.

(a) *cis*-acting elements



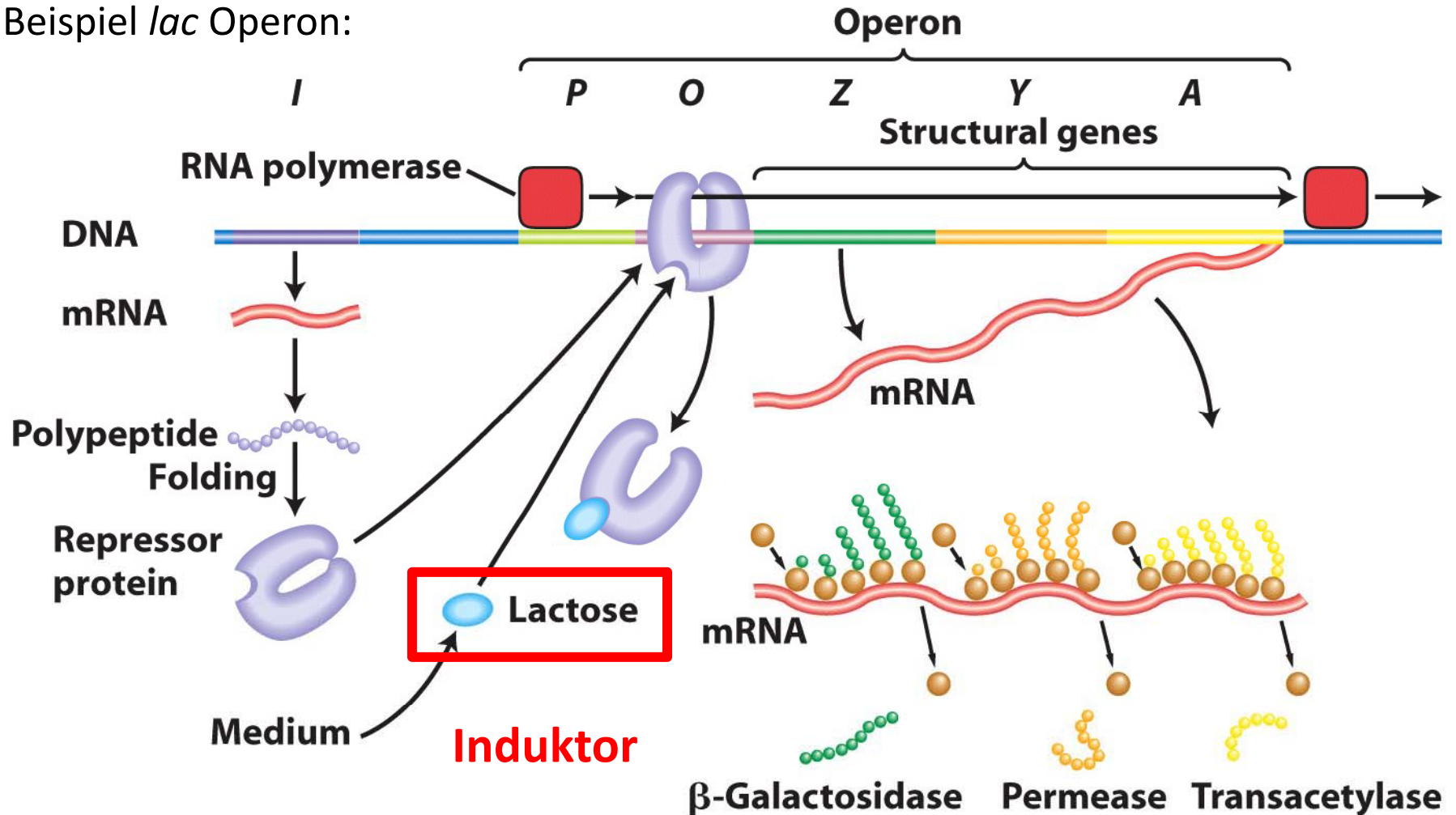
(b) *trans*-acting gene products interact with *cis*-acting elements

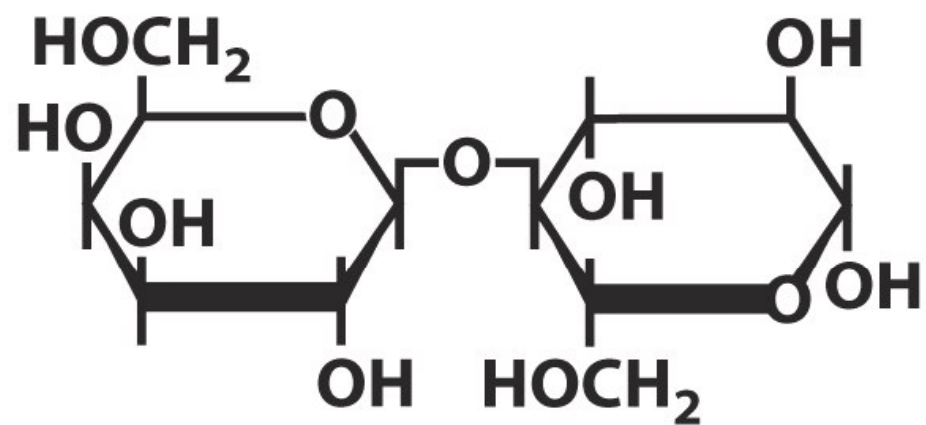


8. Was ist gemeint?

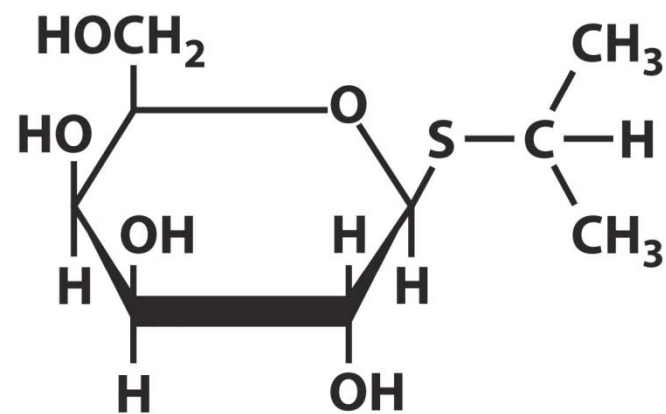
d) Ein Umweltmolekül, welches die Transkription eines Operons aktiviert.

Beispiel *lac* Operon:





Lactose



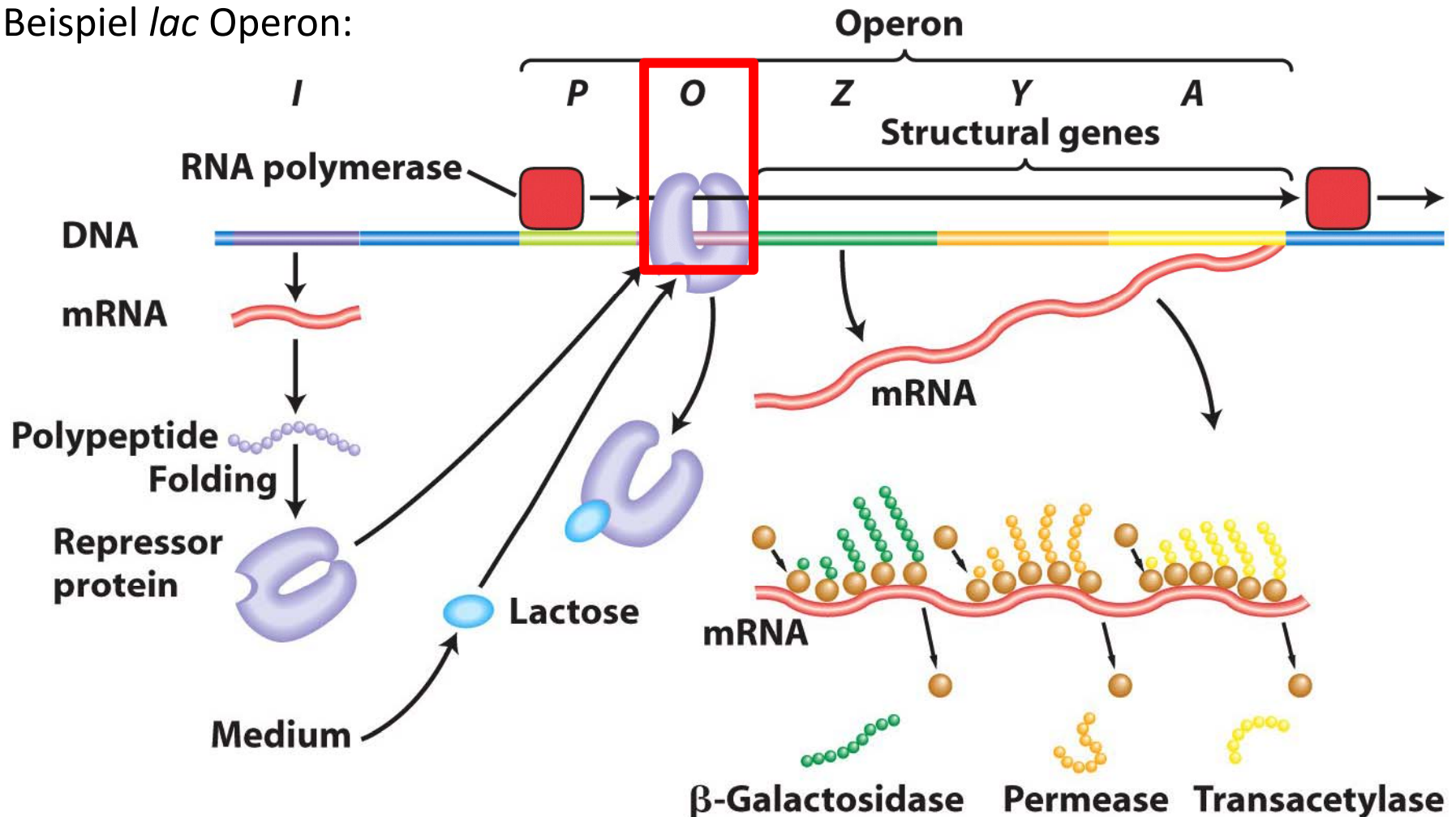
**Isopropyl- β -D-thiogalactoside
(IPTG)**

8. Was ist gemeint?

e) Region eines Operons, die dem Repressor die Bindung ermöglicht.

O = Operator

Beispiel *lac* Operon:

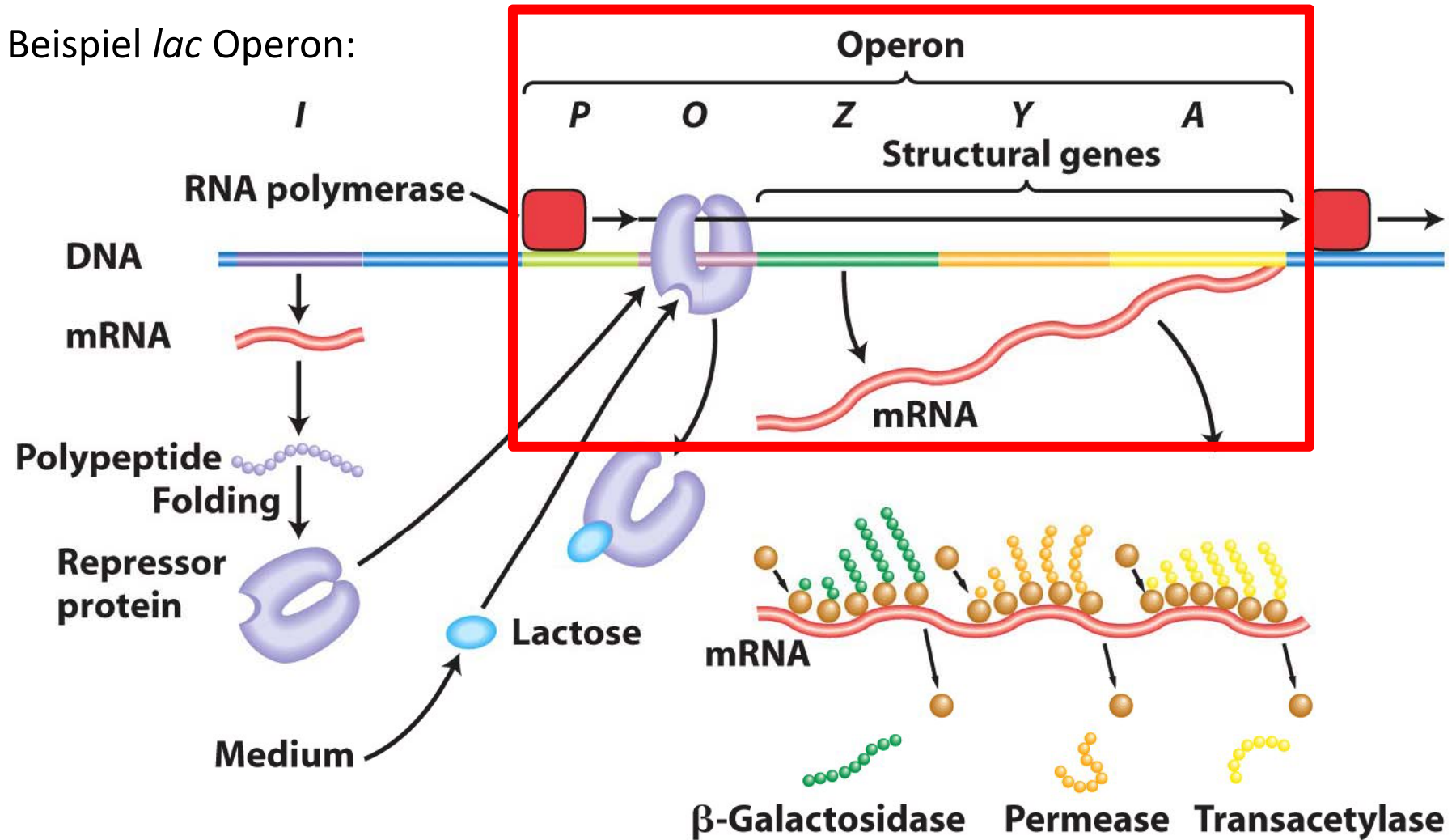


5' T G G A A T T G T G A G C G G A T A A C A A T T 3'
3' A C C T T A A C A C T C G Ć C T A T T G T T A A 5'

8. Was ist gemeint?

f) Ein Set von Genen, deren RNA in einem Molekül synthetisiert wird.

Beispiel *lac* Operon:

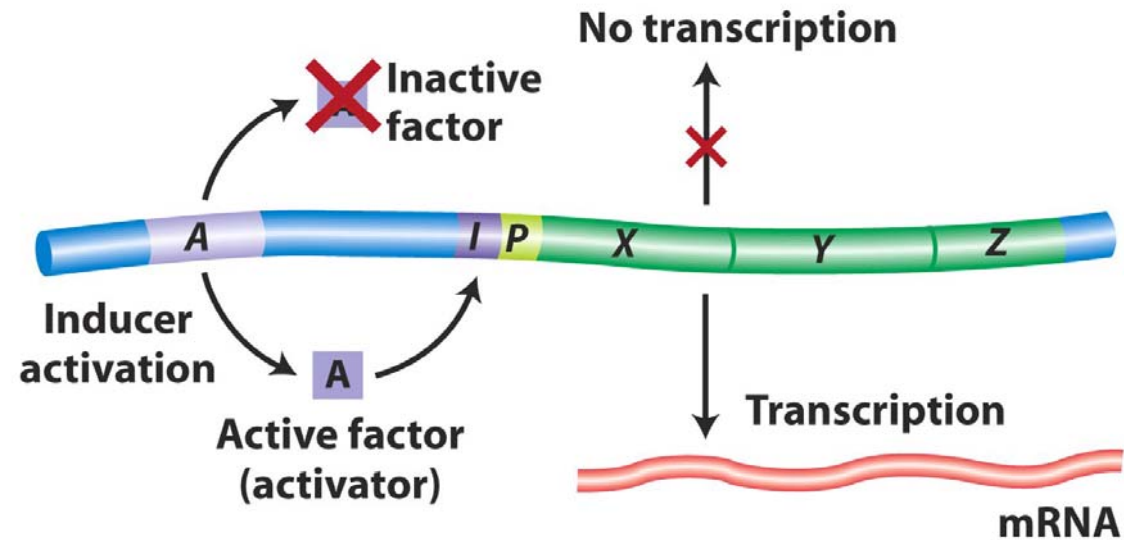


8. Was ist gemeint?

g) Dieser Begriff beschreibt die Beschleunigung/Aktivierung von Transkription, wie z.B. durch cAMP-CAP.

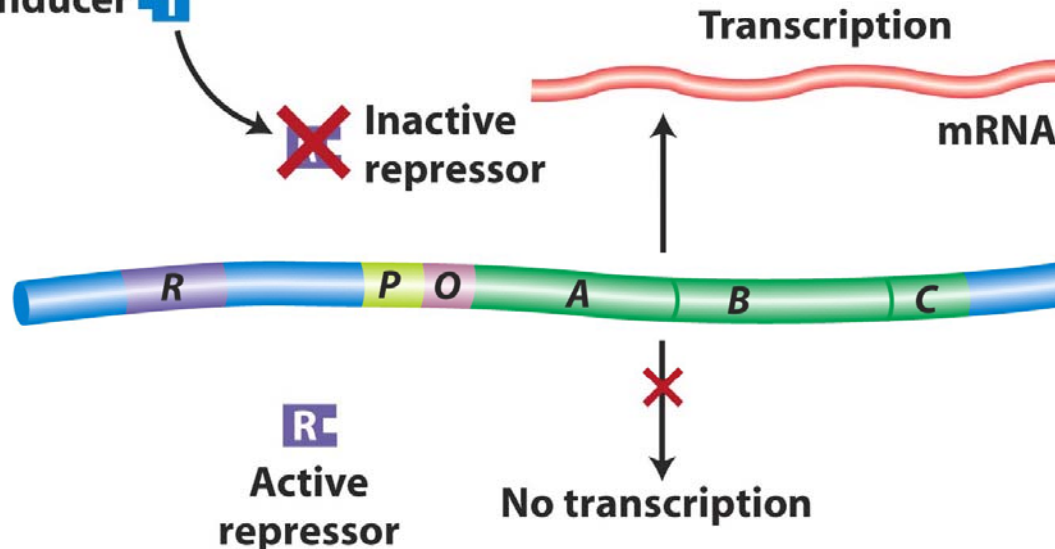
Positive Regulation

Activation



Repression

Inducer

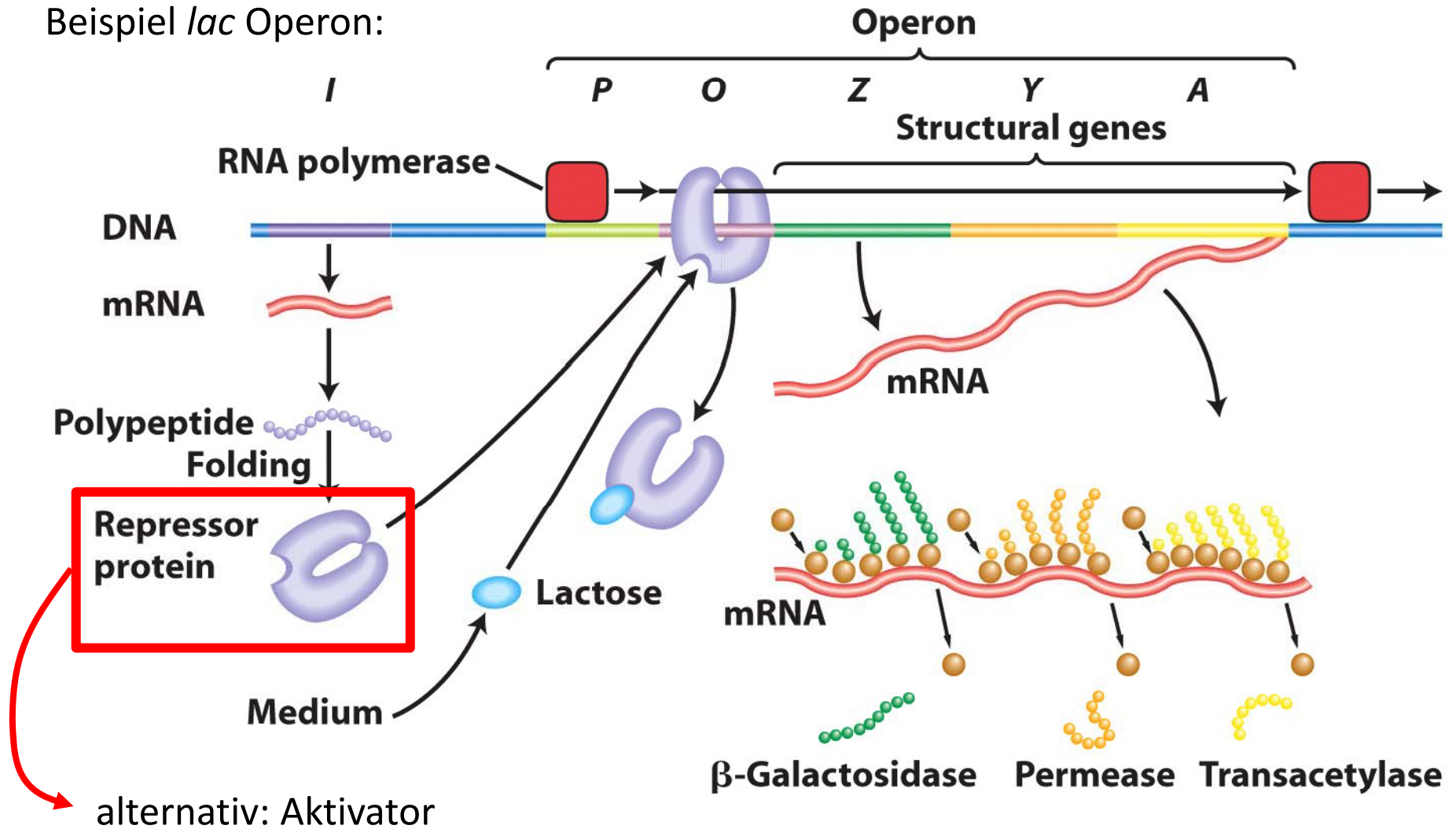


Negative Regulation

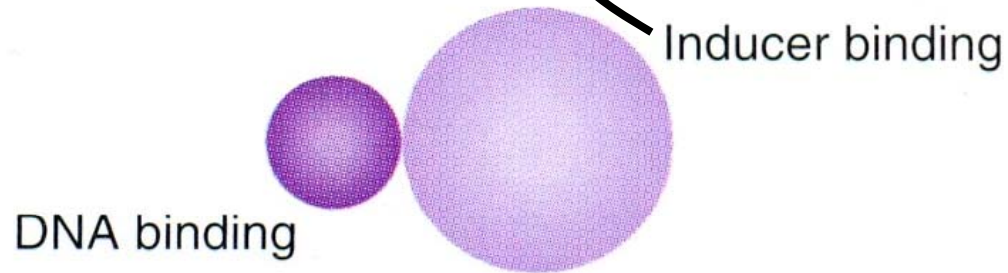
8. Was ist gemeint?

h) Dieser Begriff bezeichnet ein Protein, welches an den Operator bindet.

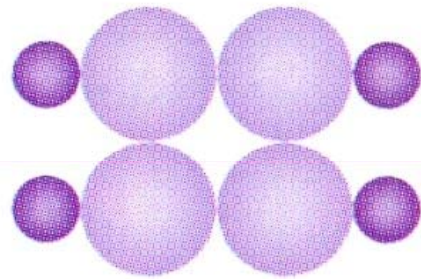
Beispiel *lac* Operon:



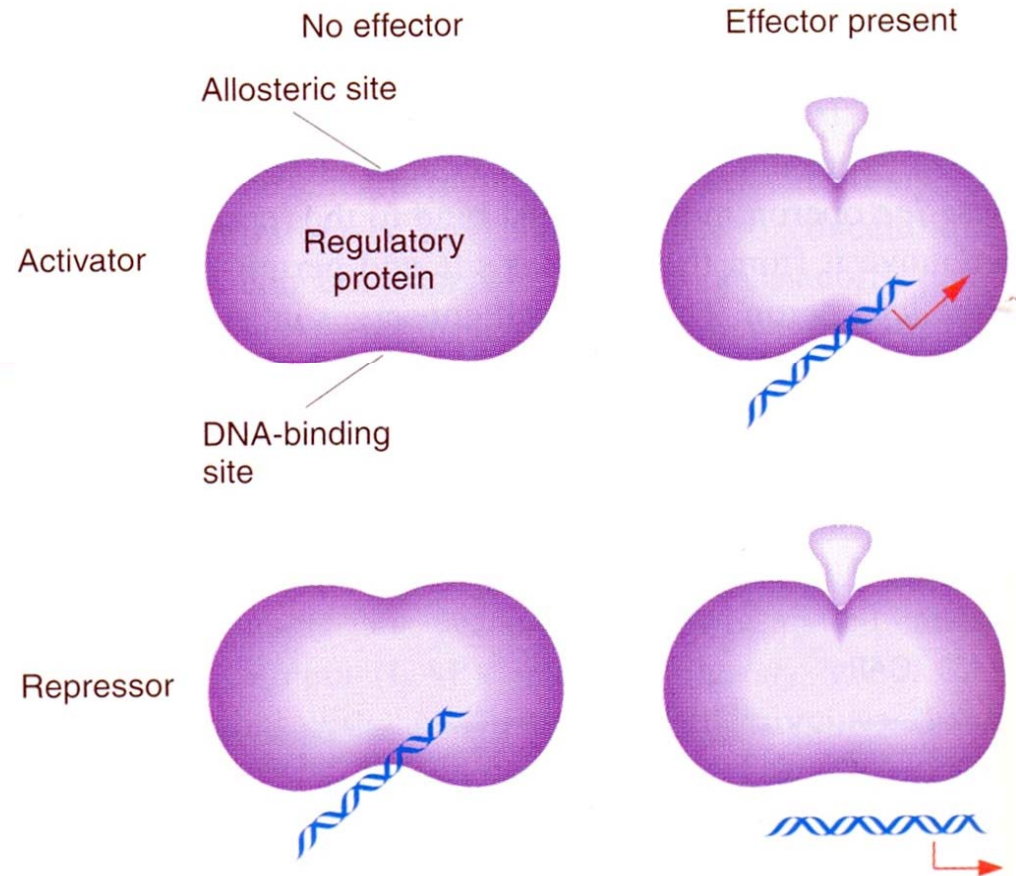
= allosteric site:
Fungiert als Schalter, der die DNA-
Bindedomäne in funktionalen oder
nicht funktionalen Zustand versetzt.



Lac repressor monomer



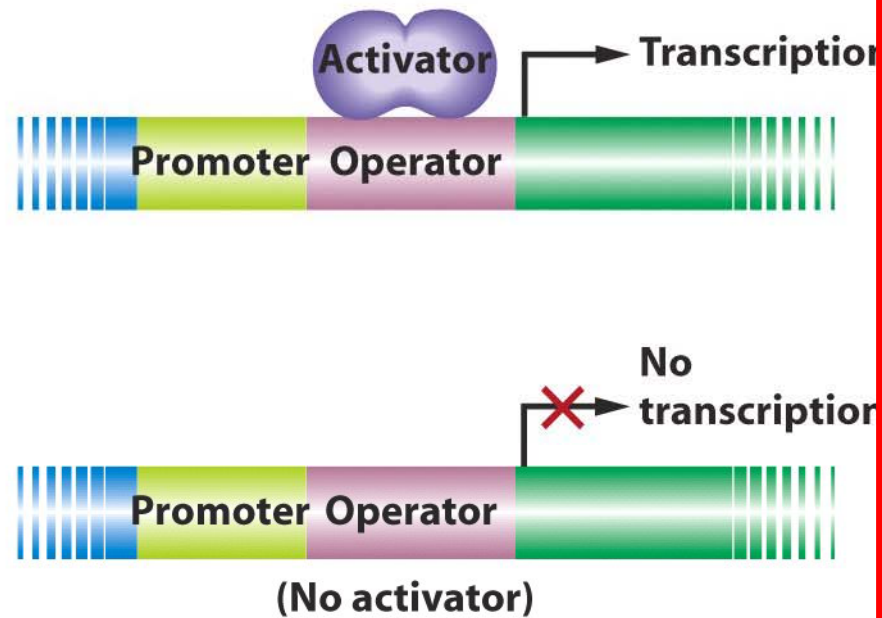
Lac repressor tetramer



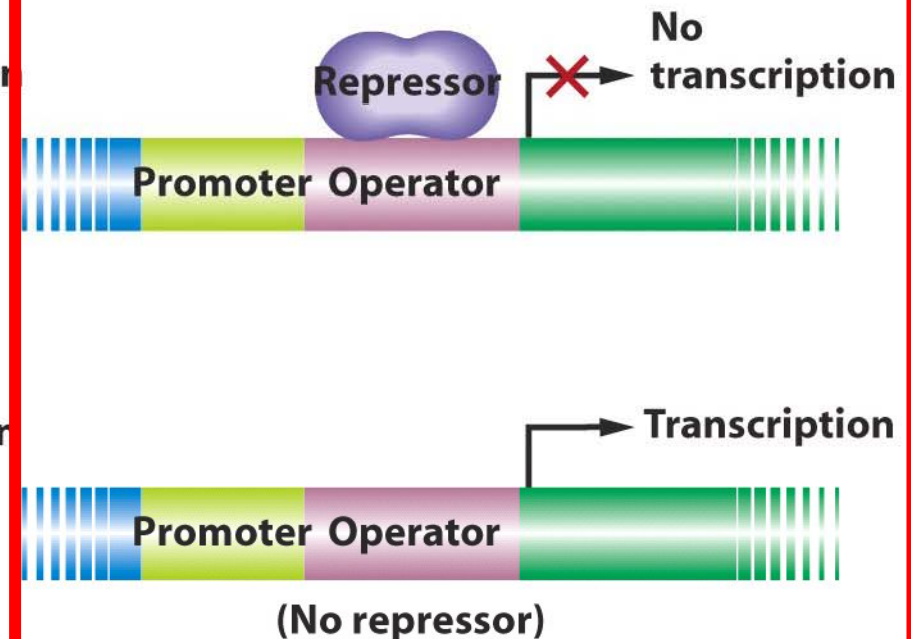
8. Was ist gemeint?

i) Regulation durch Faktoren, die die Transkription verhindern.

Positive regulation



Negative regulation



8. Was ist gemeint?

j) Genregion, an welcher die RNA-Polymerase bindet, um die Transkription zu starten.

P = Promotor

Beispiel *lac* Operon:

